

# RELACIÓN ENTRE EL ÉXITO REPRODUCTIVO Y LA CONCENTRACIÓN DEL NÉCTAR FLORAL EN *RODRIGUEZIA GRANADENSIS* (ORCHIDACEAE)

**Alba Lucía Caicedo Muñoz**

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia  
Correo electrónico: albalu3140@gmail.com

**Alba Marina Torres González**

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia  
Correo electrónico: alba.torres@correounivalle.edu.co

**Nhora Helena Ospina Calderón**

Universidad del Valle, Apartado Aéreo 25360, Cali, Colombia  
Correo electrónico: nhora\_helena@yahoo.com

## RESUMEN

*Rodriguezia granadensis* (Lindl.) Rchb.f. es una orquídea xenógama obligada polinizada por abejas euglosinas, la cual presenta un fenómeno de recompensa difusa. Para evaluar cómo influye la concentración del néctar en el éxito reproductivo de *R. granadensis* se seleccionó una población de flores en un bosque ripario subandino, se fijaron tres puntos y se suplementaron las flores en diferentes concentraciones de néctar (50%, 40% y 0%) desde Julio hasta Septiembre de 2018. Se cuantificó el número de visitas efectivas, y se hizo monitoreo semanal en cada uno de los puntos del bosque. Aunque altas concentraciones de néctar aumentaron el número de visitas efectivas masculinas, no hubo diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Las visitas efectivas femeninas sólo se registraron para el tratamiento con concentración de néctar al 50%. Este resultado refleja el comportamiento de los polinizadores de orquídeas que tienden a permanecer en los parches gratificantes. El bajo éxito reproductivo femenino y masculino evidenciado en los tratamientos podría ser explicado por el robo de néctar. Durante las horas de monitoreo fueron observados visitantes de la familia Hesperidiidae y a *Pseudohaetera hypaesia*, robando néctar sin producir daño a las flores. Este es el primer registro de robo de néctar en *R. granadensis*. Aún no es posible afirmar que altas concentraciones de néctar aumentan el éxito reproductivo en *R. granadensis*, se necesitan más estudios que controlen variables como el robo de néctar, además que reúnan varios periodos de floración, otras localidades y más horas de observación por estación, para una confirmación sólida.

**Palabras clave:** Bosque subandino, Polinización de orquídeas, Recompensa floral, Robo de néctar, Suplementación de néctar.

## ABSTRACT

*Rodriguezia granadensis* (Lindl.) Rchb.f. is an obligated xenogamic orchid pollinated by euglossine bees, which presents a phenomenon of diffuse reward. To determine how the concentration of nectar influences the reproductive success of *R. granadensis*, a population of flowers was selected from a subandean riparian forest. Three points were chosen and the flowers were supplemented in different nectar concentrations (50%, 40%, and 0%) during July to September 2018. The number of effective visits was quantified. Weekly monitoring was carried out in each of the forest points. Although high concentrations of nectar increased the number of effective male visits, there were no significant statistical differences between treatments. The effective female visits were only registered for the 50% nectar concentration treatment. This result reflects the behavior of orchid pollinators which tend to remain in rewarding patches. The low female and male reproductive success might be explained by nectar larceny. During the monitoring hours, visitors of the Hesperidiidae family and *Pseudohaetera hypaesia* were observed stealing nectar without causing damage to the flowers. This is the first record of nectar larceny in *R. granadensis*. It is not possible to affirm yet that high concentrations of nectar increase reproductive success in *R. granadensis*. More studies are needed that control variables such as nectar larceny, and that include several periods of flowering, other localities and more observation hours per station for a solid confirmation.

**Key words:** Floral reward, Nectar supplementation, Nectar larceny, Orchid pollination, Subandean forest.

## INTRODUCCIÓN

La polinización animal se considera una interacción mutualista, donde las plantas se benefician con la fecundación de sus óvulos y los animales obtienen recompensas en forma de polen, aromas y néctar (Chalcoff et al. 2014, Simpson & Neff 1981). El néctar floral es la recompensa recolectada con más frecuencia por los polinizadores de las orquídeas y puede afectar varios aspectos

del comportamiento de los polinizadores, como la cantidad de flores que visitan por planta y la duración de las visitas, influyendo en el éxito reproductivo de las plantas (Jersáková & Johnson 2006, Makino & Sakai 2007, Pyke 2016, Brzosko et al. 2017). La ubicación de esta recompensa en la flor de las orquídeas es variable, puede estar completamente expuesta en el labelo, recogida en un hipoquilo en forma de copa, o más comúnmente oculta en un espolón floral (Neiland & Wilcock 1998, Stpiczynska 2003, Molnár & Sramkó 2012). Sin embargo, se ha estimado que casi un tercio de las orquídeas tienen polinización por engaño, en la que sus polinizadores no

reciben ninguna recompensa en absoluto (Cozzolino & Widmer 2005, Jersáková et al. 2006, Johnson 2014). Para lograr la visita de sus polinizadores las especies con polinización por engaño tienen parecidos visuales y olfativos con plantas nectaríferas o con insectos (Johnson et al. 2003, Jersáková et al. 2009, Scopece et al. 2009).

La limitación de la polinización ya sea por ausencia de polinizadores, recursos insuficientes, o ambos puede influir en el éxito reproductivo de los individuos (Tremblay et al. 2005, Smithson 2006, Brzosko et al. 2017). Además de esto se ha registrado otro factor que tiene un efecto negativo en el éxito reproductivo de las orquídeas y es el robo de néctar (Burkle et al. 2007, Irwin et al. 2010).

La influencia de los sistemas de polinización que ofrecen néctar y los sistemas de polinización sin recompensa sobre el éxito reproductivo en las orquídeas ha sido de interés de varios investigadores. Neiland & Wilcock (1998) y Tremblay et al. (2005) han asociado a las orquídeas que no producen néctar de recompensa para sus polinizadores, con una producción de frutos mucho menor comparada con orquídeas que si lo hacen. Por otro lado algunos investigadores confirman que aún una pequeña recompensa de néctar en especies como *Comparettia falcata*, *Anacamptis morio*, *Disa pulchra* y *Dactylorhiza sambucina* incrementa la atracción a polinizadores y la producción de frutos, mejorando el éxito reproductivo (Ackerman et al. 1994, Johnson et al. 2004, Jersáková & Johnson 2006, Jersáková et al. 2008). Mientras que otros encontraron que el néctar en altas cantidades no aumentó la frecuencia de visita de polinizadores, ni el movimiento del polen o el éxito reproductivo en las especies *C. falcata* y *Barlia robertiana* (Salguero-Farfa & Ackerman 1999, Smithson & Gigord 2001). Por otro lado Smithson (2002) reportó que la suplementación de inflorescencias con néctar en la especie *A. morio* aunque aumentó la visita de polinizadores, no incrementó la producción de frutos en comparación con las inflorescencias control, por el contrario la suplementación dio como resultado una calidad de fruta reducida, sin evidencia de que esto fuera consecuencia de la depresión endogámica.

Estos resultados muestran que aún no se ha logrado esclarecer si la variación en la concentración y cantidad de néctar tiene un patrón claro en la respuesta de los polinizadores del néctar floral y en el éxito reproductivo de las orquídeas. Nosotros estudiamos el éxito reproductivo en la orquídea neotropical, epífita de ramita (i.e. Grupo de orquídeas que se han especializado en habitar las ramillas de las copas de los árboles con alta luminosidad) *Rodriguezia granadensis* (Lindl.) Rchb.f. especie endémica para Colombia y de importancia para la conservación en bosques secos (Pizano et al. 2014). Esta especie se caracteriza por ser xenógama obligada polinizada por las abejas euglosinas *Eulaema meriana*, *E. cingulata* y *Exaerete smaragdina* (Ospina-Calderón et al. 2015). Un estudio previo de la ecología de la polinización de esta especie reportó que el 36% del total las flores de *R. granadensis* producía néctar con alta concentración de azúcar (31,32%) y el 64% restante de las flores no producía néctar, concluyendo que estas flores tienen un fenómeno de recompensa difusa (Ospina-Calderón et al. 2015).

De acuerdo a esto surge el interrogante, ¿En un experimento controlado, las variaciones en las concentraciones de néctar están relacionadas con el éxito reproductivo de *R.*

*granadensis*? Se hipotetiza que altas concentraciones de néctar en las flores *R. granadensis* aumentan el éxito reproductivo de la especie. Para probar esta hipótesis se evaluará la relación entre la concentración de néctar floral, suplementando las flores en diferentes concentraciones y el éxito reproductivo a través de la cuantificación del número de visitas efectivas que muestran el éxito reproductivo masculino (i.e. remoción del polinio) y femenino (i.e. deposición del polinio).

## MÉTODOS

**Área de estudio:** El presente estudio se llevó a cabo en el predio La Brumana ubicado en el corregimiento Borrero Ayerbe (Km 30, antigua vía Cali - Buenaventura), municipio de Dagua, departamento Valle del Cauca (3°34'22"N, 76°38'5"W entre los 1432 a 1460 msnm). Este predio posee un bosque ripario con un grado medio de intervención, el cual presenta características de un bosque subandino con vegetación de árboles frondosos de 25 a 35 m, epifitismo moderado y en el sotobosque predominan helechos y aráceas (Ranchel-Ch et al. 1997). La temperatura media anual de esta zona oscila entre 18 y 24°C, y la precipitación media anual es 1182 mm (INVEMAR, 2017).

**Especie de estudio:** *R. granadensis* es una epífita de ramita que se encuentra entre 700 y 1900 msnm distribuida en los departamentos de Antioquia, Boyacá, Cundinamarca, Magdalena, Nariño, Norte de Santander, Santander y Valle del Cauca (Calderón 2007, Pizano et al. 2014, Tropicos 2017). Florece sincrónicamente, dos veces al año, el primer periodo entre Febrero y Abril, el segundo entre Julio y Septiembre. El color de la flor varía entre plantas de blanco a rosa; tiene un espolón formado por la fusión de los sépalos laterales, que generalmente produce néctar (Ospina-Calderón et al. 2015). Las plantas producen una hoja por pseudobulbo, con inflorescencias laterales colgantes, habitualmente una o dos inflorescencias por pseudobulbo, con un promedio de cinco flores por inflorescencia (Ospina-Calderón et al. 2015). Cada flor contiene un volumen medio de néctar de 4 µl, ubicado en el espolón y una concentración de azúcar entre 38-40%. Sin embargo, no todas las flores contienen néctar. Presenta una única antera que contiene un polinario que consiste en dos polinios amarillos unidos a un estipe delgado y al viscidium.

**Diseño experimental:** Se realizó una curva de producción néctar para estimar la variación en la concentración y volumen del néctar de las flores de *R. granadensis*, de acuerdo a Dafni (1992). Se embolsó una muestra de 15 flores antes de la antesis, se midió la concentración y el volumen del néctar cada tres horas durante el día desde las 6:30 h hasta las 18:30 h. En cada medición se usaron tres flores nuevas, por lo tanto estas fueron descartadas para siguientes mediciones. Por otro lado, se tomó otra muestra de 10 flores, a las cuales se les vació el néctar y se volvieron a embolsar por un tiempo limitado (120 min) con el fin de medir la nueva producción de néctar. El néctar de las flores en cada medición se extrajo con la ayuda de diferentes capilares de 1.15 mm de diámetro. La concentración se midió con un refractómetro de mano (Atago BRIX 28 - 68% N2) y con la ayuda de un calibrador digital marca Somet, se midió la longitud de la columna del néctar en el capilar para estimar el volumen a través de la fórmula:  $V = Ah$ , donde  $A$  = área de la base del capilar y  $h$  = longitud de la altura del capilar.

De acuerdo al promedio de la concentración y el volumen del

néctar floral y al umbral de forrajeo en las concentraciones de néctar para las abejas euglosinas (Borrell 2007), se hizo un tratamiento de suplementación de néctar a flores de *R. granadensis* a una concentración al 50% de sacarosa llamado “Alta Concentración de Néctar (AC)”, otro a una concentración al 40% (concentración natural de néctar en *R. granadensis*) llamado “Control Positivo (CP)” y flores sin solución de sacarosa, llamado “Control Negativo (CN)”.

Estos tratamientos se ubicaron en tres puntos aleatorios en el bosque. El tratamiento CP se ubicó en el primer punto (3°34'29"N, 76°38'15"W; 1432 msnm) a una distancia de 179.6 m del segundo punto, el tratamiento AC se ubicó en el segundo punto (3°34'37"N, 76°38'06"; 1449 msnm) y el tratamiento CN se ubicó en el tercer punto (3°34'39"N, 76°38'06"W; 1460 msnm) a una distancia de 248.6 y 69 m del primer y segundo punto, respectivamente. Se usaron plantas cultivadas en condiciones semisilvestres provenientes de rescate de ramitas caídas en sectores aledaños, que se encontraban sembradas y establecidas en ramitas móviles, las cuales fueron ubicadas en el bosque a principios de la segunda temporada de floración (i.e. Julio-septiembre de 2018). En cada punto del bosque se seleccionaron siete árboles aleatoriamente en los cuales se pusieron las plantas (CP = 24 plantas, CN = 19 plantas, AC = 19 plantas). En cada árbol se colocaron de una a seis plantas, con el fin de completar 61 flores por cada tratamiento, para un total de 183 flores en todo el experimento. Las ramitas móviles se fijaron con alambre a las ramas de los árboles.

**Manipulación de la concentración de néctar y éxito reproductivo:** Las 183 flores se embolsaron antes de la antesis. Al comienzo de la antesis se cortó el nectario de origen columnar, conservando el sinsépalo en forma de espolón en todas las flores, inmediatamente después de extraer el néctar producido por la flor. Con la ayuda de una jeringa se inyectó aproximadamente 4 µl de una solución de sacarosa al 50% en todas las flores de cada individuo del tratamiento AC y al 40% en todas las flores de cada individuo del tratamiento CP. Cada día de observación se revisaron las flores suplementadas y se volvió a suplementar las flores que ya no tenían néctar (excepto a las flores polinizadas). También se realizaron curvas de néctar para los tratamientos AC y CP con el fin de determinar la variación de la concentración del néctar artificial durante el día. Para esto se siguió el mismo procedimiento que se realizó en la primera curva de néctar. Las visitas efectivas de los posibles polinizadores se verificaron al observar que el polinario hubiese sido removido o depositado. Adicionalmente, se evaluó el éxito reproductivo masculino reflejado en la remoción del polinario y el éxito reproductivo femenino como la deposición del polinario (Fig. 1b, c).



**Figura 1.** a) Estructura reproductiva de *Rodriguezia granadensis* (la flecha indica tapa de la antera que protege el polinario). b) Polinario removido por polinizador (la flecha indica la ausencia de polinario). c) Polinario depositado en el estigma (la flecha indica el polinario).

**Monitoreo de visitantes:** Se realizaron observaciones cada semana entre las 9:00 - 17:00 h en cada uno de los puntos del bosque durante seis semanas para un total de 48 h de observación por sitio. En cada sitio se tomaron datos de temperatura (°C) y humedad relativa (HR%) para asegurar que la variación de las condiciones climáticas en los diferentes puntos del bosque fuera baja (Tabla 1). Se registraron los visitantes florales y su comportamiento, la duración de la visita (seg) y el número de flores visitadas en un minuto.

**Tabla 1.** Mediciones microclimáticas en un bosque subandino de Dagua, Colombia.

Lugar <sup>a</sup>	Día	$\bar{x}$ (°C)	$\bar{x}$ HR (%)
CP	1	23,0	67
	2	20,9	89
	3	23,7	55
	4	20,3	63
	5	20	91
	6	24,4	80
AC	1	22,5	80
	2	22,0	81
	3	24,5	60
	4	21,2	95
	5	22,5	91
	6	21,0	82
CN	1	20,1	88
	2	22,8	78
	3	19,3	70
	4	19,5	73
	5	20	80
	6	20,6	79

<sup>a</sup>Donde están ubicados los diferentes tratamientos. CP = Control Positivo (40%), AC = Alta Concentración de Néctar (50%), CN = Control Negativo (0%).

**Análisis estadístico:** Se empleó un modelo lineal generalizado con distribución de errores binomial (Cayuela 2015) para evaluar el efecto que tiene la concentración de néctar sobre las visitas efectivas de los polinizadores y el éxito reproductivo en *R. granadensis*. Este modelo se usó para analizar el efecto de la concentración del néctar sobre el éxito reproductivo masculino. Los análisis se hicieron en el programa RStudio (RStudio Team 2015).

## RESULTADOS

**Curva de producción de néctar:** La curva para estimar la producción de néctar natural en *R. granadensis* mostró que la concentración del néctar aumenta conforme avanza el día, teniendo su pico más alto (45%) a las 15:30 h. En promedio la concentración de néctar fue del 40% y el volumen de 4 µl (Fig. 2). Los resultados de la curva del néctar artificial del tratamiento AC muestran que después de 3,5 h la concentración de azúcar disminuyó el 17, 5% (i.e. de 50% a 32,5%), y el volumen aumentó en 0,7 µl (i.e. de 4 µl a 4,7 µl). De las 12:30 h en adelante se incrementó la concentración y disminuyó el volumen, teniendo el pico de concentración más alto (44%) a las 18:30 h (Fig. 3).

**Tabla 2.** Visitantes florales a flores de *Rodriguezia granadensis* en un bosque subandino de Dagua, Colombia.

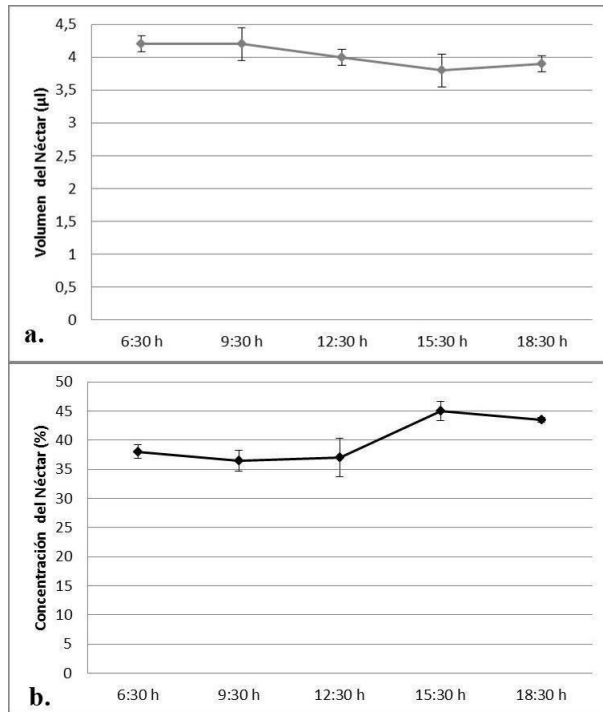
Trat <sup>a</sup>	Días	Hora	Visitante	Comportamiento del visitante <sup>b</sup>	Duración visita (seg)	Nº flores visitadas <sup>c</sup>
CP	1	9:00 - 17:00	—	—	—	—
		12:20			38"	1
	2	14:30	Hesperiidae 2	RN ; MDF	20"	1
		15:40			15" - 20"	3
	3	9:00 -17:00	—	—	—	—
		9:00			26"	1
	4	9:40	Hesperiidae 3	RN ; MDF	7"	1
	5	9:00 -17:00	—	—	—	—
	6	9:00 -17:00	—	—	—	—
AC	1	12:15	<i>Trigona amalthea</i>	GF ; RP	5" - 9"	1
		9:00			5" - 10"	2
		9:40	Hesperiidae 1	RN ; MDF	30" - 40"	2
		9:49			48"	1
		10:46	Hesperiidae 2	RN ; MDF	24"	1
	2	11:31	<i>Pseudohaetera hypaesia</i>	RN; IEF	30" - 40"	2
		11:43	Hesperiidae 1	RN ; MDF	10"	1
		14:50	<i>Pseudohaetera hypaesia</i>	RN ; IEF	40"	1
		15:45			15"	1
		16:05	Hesperiidae 1	RN ; MDF	10"	1
	3	14:35	<i>Pseudohaetera hypaesia</i>	RN ; IEF	18" - 20"	3
	4	10:20	<i>Pseudohaetera hypaesia</i>	RN ; IEF	40"	1
	5	9:00 -17:00	—	—	—	—
		14:11	Hesperiidae 2	RN ; MDF	48" - 30"	2
		14:14			50"	1
		15:16	<i>Pseudohaetera hypaesia</i>	RN ; IEF	10" - 8"	3
		16:00	Hesperiidae 2	RN ; MDF	50"	1
		16:38	<i>Pseudohaetera hypaesia</i>	RN ; IEF	15" - 30"	2
		16:39			60"	1

<sup>a</sup> Trat = Tratamientos con suplementación de néctar a varias concentraciones; CP = Control Positivo (40%), AC = Alta Concentración de Néctar (50%), CN = Control Negativo (0%).

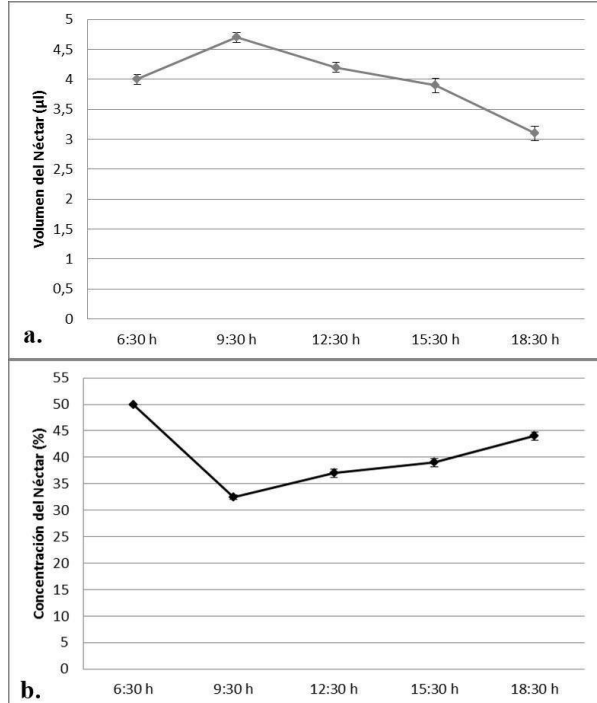
<sup>b</sup> GF = Giros del visitante sobre la flor; RP = Robo de Polen; RN =

Robo de Néctar; MDF = Movimientos del visitante hacia adentro y hacia fuera de la flor; IEF = Visitante introduce la espiritrompa en el espolón desde afuera.

<sup>c</sup> Número de flores visitadas en un minuto.

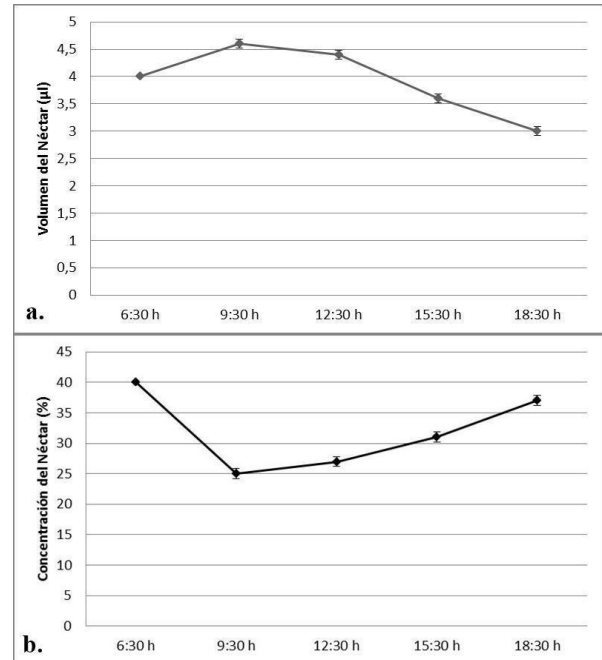


**Figura 2.** Curva del néctar floral de *Rodriguezia granadensis* durante el día. a) Variación en el volumen del néctar. b) Variación en la concentración del néctar. La línea vertical indica la desviación estándar.  $n = 3$  flores por cada medición.



**Figura 3.** Curva del néctar artificial del tratamiento con Alta Concentración de Néctar (50%) en *Rodriguezia granadensis* durante el día. a) Variación del volumen del néctar. b) Variación de la concentración del néctar. La línea vertical indica la desviación estándar.  $n = 3$  flores por cada medición.

De la misma forma ocurre en la curva de néctar del tratamiento CP, después de 3,5 h la concentración de azúcar disminuyó el 15%, y el volumen aumentó en 0,6 µl. A partir de las 12:30 h en adelante se incrementó la concentración y disminuyó el volumen, teniendo el pico de concentración más alto (37%) a las 18:30 h (Fig. 4). Al extraer el néctar de una muestra de flores y volver a medir después de 120 min, se encontró que *R. granadensis* no repone néctar.

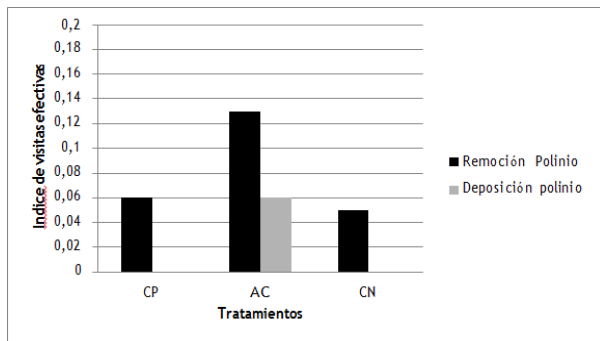


**Figura 4.** Curva del néctar artificial del Control Positivo (40%) en *Rodriguezia granadensis* durante el día. a) Variación del volumen del néctar. b) Variación de la concentración del néctar. La línea vertical indica la desviación estándar.  $n = 3$  flores por cada medición.

**Manipulación de la concentración de néctar y éxito reproductivo:** El índice de visitas (flores visitadas/flores totales) efectivas masculinas (i.e remoción de polinario) en los puntos de monitoreo fue el doble para el tratamiento AC en comparación al tratamiento CP. Mientras que el tratamiento CN tuvo un índice menor que el tratamiento CP (Fig. 5). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para el éxito reproductivo masculino (Test glm= 2,922; 2 gl;  $P = 0,232$ ), es decir que el éxito reproductivo es independiente de la concentración de néctar. Por otro lado, la deposición de polinario solo se presentó en el tratamiento AC (Fig. 5).

**Monitoreo de visitantes:** El tratamiento CN fue el único que no presentó visitantes florales durante las 48 h de observación. El tratamiento CP tuvo dos visitantes de la familia Hesperidae (Fig. 6a, b), y un índice de visitas de 0,08. El tratamiento AC fue el que tuvo mayor número de visitantes (cuatro) y mayor índice de visitas (0,3). Dos visitantes del tratamiento AC pertenecen a la familia Hesperidae, uno pertenece a la subfamilia Satyrinae (*Pseudohaetera hypaesia*), y otro pertenece a las abejas sin aguijón *Trigona amalthea* (Fig. 6). Los miembros de la familia Hesperidae introducían su espiritrompa hacia adentro y hacia afuera de la flor sin tener contacto con las estructuras reproductivas de la flor. Por el contrario, *P. hypaesia*

introducía su espiritrompa desde afuera en el espolón (Fig. 6c).



**Figura 5.** Índice de visitas efectivas (flores visitadas efectivamente/flores totales) masculinas (remoción de polinario, barra negra) y femeninas (deposición de polinario, barra gris) en *Rodriguezia granadensis*. CP = Control Positivo, AC = Alta Concentración de Néctar, CN = Control Negativo. Intervalos de confianza visitas masculinas: I.C. al 95% del CP (0,001; 0,119), I.C. al 95% del AC (0,045; 0,215) y I.C. al 95% del CN (0,005; 0,105). Intervalo de confianza visitas femeninas: I.C. al 95% del AC (0,001; 0,119).  $n = 61$  flores por tratamiento.

Ninguno de los visitantes registrado ocasionó daño a las flores, a pesar de ser robadores de néctar (Tabla 2). No se observó ningún polinizador durante el tiempo de monitoreo, pese al registro de visitas efectivas.



**Figura 6.** Visitantes florales de *Rodriguezia granadensis* a) Hesperiidae 1. b) Hesperiidae 2. c) *Pseudohaetera hypaesia* d) *Trigona amalthea*.

## DISCUSIÓN

La variación que mostraron las curvas de néctar para los tratamientos AC y CP en la concentración y el volumen de néctar artificial en *R. granadensis* es posible entenderla

mediante los procesos de dilución de sacarosa y evaporación de agua. La dilución del néctar puede ser ocasionada por el potencial osmótico de las paredes de las células del espolón. El potencial osmótico consiste en la tendencia del agua a moverse a través de una membrana en respuesta a la concentración de solutos (Nabors 2006). En la flor de *R. granadensis*, el agua de las células del espolón fluye hacia la solución de néctar (con mayor concentración de solutos), dando como resultado una disminución en la concentración del néctar y un aumento en el volumen. De hecho, después de la suplementación de néctar artificial, el espolón de *R. granadensis* reflejaba deshidratación del tejido. Este proceso ha sido reportado por Nicolson (2002) quien encontró que la hidrólisis de la sacarosa aumenta el potencial osmótico en las paredes de las células de los nectarios y como consecuencia de esto, la concentración de néctar disminuye de 30% a 20%, y el volumen aumenta 1,56 veces. Por otro lado, la disminución del volumen de néctar y el aumento de su concentración se deben a la pérdida de agua por evaporación debido a los gradientes microclimáticos (Corbet 2003). Así que, el volumen y la concentración de néctar en las flores de *R. granadensis* son el resultado combinado de la dilución y la evaporación, los cuales permiten la regulación de la concentración del néctar. Cabe resaltar que la dilución es un efecto registrado solamente en la composición del néctar artificial, puesto que en la curva de néctar natural no se evidenció aumento en el volumen del néctar durante el día.

La presencia de néctar en altas concentraciones aumentó el número de visitas efectivas masculinas, como se esperaba. Sin embargo, las visitas efectivas fueron pocas y los datos no fueron estadísticamente diferentes, resultado similar al encontrado por varios investigadores. Por ejemplo, Ackerman (1994) encontró en *C. falcata* que la presencia o ausencia de recompensa tuvo poco efecto sobre la probabilidad de que una planta sea efectivamente visitada más de una vez. Salguero-Farías & Ackerman (1999) reportaron que la mejora del néctar en flores de *C. falcata* que se encontraban en sitios con poca luz tuvo una tendencia a mejorar las visitas efectivas sobre los controles, aunque sin diferencias significativas. Por otro lado, Smithson & Gigord (2001) reportaron que el néctar en altas cantidades no aumentó la frecuencia de visitas de polinizadores, ni el movimiento del polen, ni el éxito reproductivo en *B. robertiana*. Así mismo Walsh & Michaels (2017), en la especie engañosa *Cypripedium candidum*, no encontraron ningún efecto al adicionar néctar sobre la remoción del polen, la eficacia de la polinización o la producción de frutos.

Las visitas efectivas femeninas en *R. granadensis* solo se presentaron en el tratamiento AC. Este resultado refleja el comportamiento de los polinizadores de las orquídeas ante la presencia de recompensa, quienes tienden a apartarse de parches poco gratificantes y, por el contrario, a permanecer en los gratificantes (Smithson & Gigord 2003, Jersáková et al. 2006, Renner 2006). Debido a este comportamiento de los polinizadores se cree que hay mayor distancia de dispersión del polen en las especies engañosas (Smithson & Gigord 2003, Renner 2006). El bajo éxito reproductivo femenino y masculino evidenciado en los tratamientos AC y CP podrían deberse al robo de néctar.

Existen diferentes tipos de robo de néctar en las plantas. Inouye (1980) ha clasificado el robo de néctar en cuatro tipos distintos. Los robadores de néctar observados en nuestro estudio pertenecen a la categoría "Nectar thieving or nectar theft" (i.e. Robo de néctar) y "Base working" (i.e. Trabajo de



base). En la categoría “Nectar thieving” los robadores acceden al néctar a través de la abertura natural del tubo floral, pero en contraste con los polinizadores, no eliminan ni depositan el polen (Inouye 1980). Este tipo de robo sucede porque la mayoría de ladrones de néctar tiene una probóscide más larga en comparación al espolón de néctar (Fox et al. 2015). Este es el caso de las dos mariposas de la familia Hesperidae que robaron néctar a flores de *R. granadensis*, con una probóscide que excede la longitud de su cuerpo (Kunte 2007, Bauder et al. 2015, Krenn & Bauder 2017) (ver Fig. 6a, b). Por otro lado, *P. hypaesia* que accedía al néctar desde afuera, en la abertura natural del espolón, entra en la categoría “Base working” donde los robadores no hacen ningún agujero, pero tampoco usan la abertura utilizada por los polinizadores (Inouye 1980). Este comportamiento podría deberse al pequeño tamaño de la probóscide de la mariposas de la subfamilia Satyrinae (Kunte 2007). *R. granadensis* presenta un largo espolón de 26.5 mm (Ospina-Calderón et al. 2015) que podría aumentar la probabilidad de ser robada (Maloof & Inouye 2000).

El robo de néctar tiene consecuencias negativas en el éxito reproductivo de las orquídeas debido a que puede reducir la capacidad reproductiva, además la planta tiene que asignar más recursos para secretar néctar extra que compense la pérdida (Irwin & Brody 1999, 2000). *R. granadensis* no repone néctar, por lo tanto, los efectos negativos pueden ser mayores. Sin embargo, el robo de néctar podría tener un efecto positivo respecto al éxito reproductivo, ya que puede aumentar la polinización cruzada y disminuir la endogamia al cambiar el comportamiento de los polinizadores legítimos (Jersáková et al. 2006).

En orquídeas no había sido reportado el robo de polen, esto se debe a que estas flores poseen una estructura reproductiva masculina especializada, donde el polen se agrupa en grandes masas formando un polinio y a su vez los polinios se unen a un viscidio adhesivo formando una estructura conocida como polinario. Por lo tanto, el polinario es la estructura completa (incluye uno o más polinios) que remueve un polinizador (Johnson & Edwards 2000).

Este polinario permanece protegido por la tapa de la antera (Harrap & Harrap 2009) (Fig. 1a), haciendo que el polen permanezca oculto la mayor parte del tiempo. Pero una vez el polinario es removido por los polinizadores y depositado en el estigma de otra flor, la masa de polen queda expuesta. Esto explica el hecho que la abeja sin aguijón *T. amalthea* logró robar polen, pues el polinario fue depositado en el estigma de otra flor por un polinizador. Esta abeja ya ha sido observada por Gutiérrez-Chacón et al. (2018) recolectando néctar y polen, pero también masticando estigmas, anteras y estilos. Aún no se tiene claridad sobre los efectos del robo de polen por abejas del género *Trigona* en la reproducción de las plantas y los resultados son diversos (Gutiérrez-Chacón et al. 2018). Sin embargo, en nuestro estudio el robo de polen tuvo un efecto negativo en el éxito reproductivo femenino, ya que después del robo del polen, no hubo formación de fruto.

En conclusión, en este estudio no es posible afirmar que altas concentraciones de néctar aumentan el éxito reproductivo en *R. granadensis*. Es necesario realizar más estudios que controlen variables como el robo de néctar y de polen, además que reúnan varios periodos de floración, otras localidades y más horas de observación, para hacer posible una confirmación sólida. Adicionalmente, los efectos de la suplementación de néctar en el éxito reproductivo de *R. granadensis* pueden no verse en la escala de tiempo de este trabajo.

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a M. Muñoz y J. Montaña por su asistencia en el trabajo de campo, a Ch. Velásquez por permitirme el acceso al área de estudio, a W. Torres y J. Montaña por su colaboración en el análisis estadístico, a H. Calero y V. Sarria por su ayuda en la identificación de los visitantes florales y por último agradezco al grupo de investigación Ecología y Diversidad Vegetal de la Universidad del Valle por el préstamo de los equipos.

## LITERATURA CITADA

- Ackerman, J. D., Rodríguez-Robles, J. A. & Melendez, E. J. (1994), “A meager nectar offering by an epiphytic orchid is better than nothing”, *Biotropica*, 26 No. 1, pp. 44-49.
- Bauder, J. A. S., Morawetz, L., Warren, A. D. & Krenn, H. W. (2015), “Functional constraints on the evolution of long butterfly proboscides: lessons from neotropical skippers (Lepidoptera: Hesperidae)”, *Journal of Evolutionary Biology*, Vol. 28 No. 3, pp. 678- 687.
- Borrell, B. J. (2007), “Scaling of nectar foraging in orchid bees”, *The American Naturalist*, Vol. 169 No. 5, pp. 569-580.
- Brzosko, E., Ostrowiecka, B., Mirski, P., Jermakowicz, E., Tałalaj, I. & Wróblewska, A. (2017), “Pollinator limitation affects reproductive success in populations of nectarless orchid in the Biebrza National Park”, *Acta Agrobotanica*, Vol. 70 No. 1, pp. 1-10.
- Burkle, L. A., Irwin, R. E. & Newman, D. A. (2007), “Predicting the effects of nectar robbing on plant reproduction: implications of pollen limitation and plant mating system”, *American Journal of Botany*, Vol. 94 No. 12, pp. 1935-1943.

- Calderón, E. (2007), *Libro rojo de plantas de Colombia. Volumen 6: orquídeas*, primera parte, Instituto de Investigaciones de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, Bogotá D. F, Colombia.
- Cayuela, L. (2015), *Modelos lineales generalizado (GLM)*, Universidad Rey Juan Carlos, Madrid.
- Chalcoff, V. R., Morales, C. L., Aizen, M. A., Sasal, Y., Rovere, A. E., Sabatino, M., Quintero, C. & Tadey, M. (2014), “Interacciones planta- animal, la polinización”, in Raffaele, E., De torres Curth, M., Morales, C. L. & Kitzberger, T. (Eds.), *Ecología e historia natural de la Patagonia Andina: un cuarto siglo de investigación en biogeografía, ecología y conservación*, Fundación de Historia Natural Félix de Azara, Buenos Aires, Argentina, pp. 113-132.
- Corbet, S. A. (2003), “Nectar sugar content: estimating standing crop and secretion rate in the field”, *Apidologie*, Vol. 34 No. 1, pp. 1- 10.
- Cozzolino, S. & Widmer, A. (2005), “Orchid diversity: an evolutionary consequence of deception?”, *Trends in Ecology and Evolution*, Vol. 20 No. 9, pp. 487-494.
- Dafni, A. (1992), *Pollination ecology: a practical approach*, Oxford University Press, Oxford.
- Fox, K., Anderson, K. M., Andres, R., Foster, M. C., Foster, C. E., Vik, D., Vitt, P. & Harris, M. O. (2015), “Nectar robbery and thievery in the hawk moth (Lepidoptera: Sphingidae) pollinated western prairie fringed orchid *Platanthera praeclara*”, *Annals of the Entomological Society of America*, Vol. 108 No. 6, pp. 1000-1013.
- Gutiérrez-Chacón, C., Pantoja-Santacruz, J. & Klein, A. M. (2018), “Floral larceny by the stingless bee *Trigona amalthea* on granadilla (*Passiflora ligularis* juss)”, *Journal of Pollination Ecology*, Vol. 22 No. 8, pp. 75-81.
- Harrap, A. & Harrap, S. (2009), “Genus *Epipactis*”, in Harrap, A. & Harrap, S. (Eds.), *Orchids of Britain and Ireland: A field and site guide*, A&C Black Publishers Ltd, London, pp.70- 141.
- INVEMAR (2017), “Bosque húmedo premontano (bh-pm)”, available at: [http://siam.invemar.org.co/siam/tesauro\\_ambiental/B/Bosque%20h%FAmedo%20prem%20\(bh-pm\).htm](http://siam.invemar.org.co/siam/tesauro_ambiental/B/Bosque%20h%FAmedo%20prem%20(bh-pm).htm) (accessed 8 December 2017).
- Inouye, D. W. (1980), “The terminology of floral larceny”, *Ecology*, Vol. 61 No. 5, pp.1251- 1253.
- Irwin, R. E. & Brody, A. K. (1999), “Nectar-robbing bumble bees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae)”, *Ecology*, Vol. 80 No. 5, pp. 1703-1712.
- Irwin, R. E. & Brody, A. K. (2000), “Consequences of nectar robbing for realized male function in a hummingbird-pollinated plant”, *Ecology*, Vol. 81 No. 9, pp. 2637-2643.
- Irwin, R. E., Bronstein, J. L., Manson, J. S. & Richardson, L. (2010), “Nectar robbing: ecological and evolutionary perspectives”, *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, Vol. 41, pp. 271-292.
- Jersáková, J. & Johnson, S. D. (2006), “Lack of floral nectar reduces self-pollination in a fly- pollinated orchid”, *Oecologia*, Vol. 147 No. 1, pp. 60-68.
- Jersáková, J., Johnson, S. D. & Kindlmann, P. (2006), “Mechanisms and evolution of deceptive pollination in orchids”, *Biological Reviews*, Vol. 81 No. 2, pp. 219-235.
- Jersáková, J., Johnson, S. D., Kindlmann, P. & Pupin, A. C. (2008), “Effect of nectar supplementation on male and female components of pollination success in the deceptive orchid *Dactylorhiza sambucina*”, *Acta Oecologica*, Vol. 33 No. 3, pp. 300-306.
- Jersáková, J., Johnson, S. D. & Jürgens, A. (2009), “Deceptive behavior in plants. II. Food deception by plants: from generalized systems to specialized floral mimicry”, in Baluška, F. (Ed.), *Plant-environment interactions: from sensory plant biology to active plant behavior*, Springer, Bonn, Germany, pp. 223-246.



- Johnson S. D. & Edwards T. J. (2000), "The structure and function of orchid pollinaria", *Plant Systematics and Evolution*, Vol. 222 No. 1- 4, pp. 243-269.
- Johnson S. D., Peter C. I., Nilsson L. A. & Ågren J. (2003), "Pollination success in a deceptive orchid is enhanced by co-occurring rewarding in magnet plants", *Ecology*, Vol. 84 No. 11, pp. 2919-2927.
- Johnson, S. D., Peter, C. I. & Ågren, J. (2004), "The effects of nectar addition on pollen removal and geitonogamy in the non-rewarding orchid *Anacamptis morio*", *Biological Sciences*, Vol. 271 No. 1541, pp. 803-809.
- Krenn, H. W., & Bauder, J. A. S. (2017), "Morphological fine tuning of the feeding apparatus to proboscis length in Hesperidae (Lepidoptera)", *Journal of Morphology*, Vol. 279 No. 3, pp. 396-408.
- Kunte, K. (2007), "Allometry and functional constraints on proboscis lengths in butterflies", *Functional Ecology*, Vol. 21 No. 5, pp. 982-987.
- Johnson, S. D. (2014), "Pollination of South African orchids in the context of ecological guilds and evolutionary syndromes", in Edens-Meier, R. & Bernhardt, P. (Eds.), *Darwin's orchids: then and now*, The University of Chicago Press, Chicago and London, pp. 982- 987.
- Makino, T. T. & Sakai, S. (2007), "Experience changes pollinator responses to floral display size: from size-based to reward-based foraging", *Functional Ecology*, Vol. 21 No. 5, pp. 854-863.
- Maloof, J. E. & Inouye, D. W. (2000), "Are nectar robbers cheaters or mutualists?", *Ecology*, Vol. 81 No. 10, pp. 2651-2661.
- Molnár, A. & Sramkó, G. (2012), "*Epipactis albensis* (Orchidaceae): a new species in the flora of Romania", *Biologia*, Vol. 67 No. 5, pp. 883-888.
- Nabors, M. W. (2006), "El transporte en los vegetales", in Nabors, M. W. (Ed), *Introducción a la Botánica*, Person Educación, S. A., Madrid, pp. 241-265.
- Neiland, M. R. & Wilcock, C. C. (1998), "Fruit set, nectar reward, and rarity in the Orchidaceae", *American Journal of Botany*, Vol. 85 No. 12, pp. 1657-1671.
- Nicolson, S. W. (2002), "Pollination by passerine birds: why are the nectars so dilute?", *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 131 No. 4, pp. 645-652.
- Ospina-Calderón, N. H., Duque-Buitrago, C. A., Tremblay, R. L. & Otero, J. T. (2015), "Pollination ecology of *Rodriguezia granadensis* (Orchidaceae)", *Lankesteriana*, Vol. 15 No. 2, pp. 129-139.
- PCI Instruments (2017), "Refractómetro", available at: [www.pce-instruments.com/espanol/instrumento-medida/medidor/refractometro-kat\\_70145\\_1.htm](http://www.pce-instruments.com/espanol/instrumento-medida/medidor/refractometro-kat_70145_1.htm) (accessed 10 December 2017).
- RStudio Team (2015), "RStudio: integrated development for R", available at: [www.rstudio.com](http://www.rstudio.com) (accessed 12 September 2018).
- Pizano, C., González-M, R., González, M. F., Castro-Lima, F., López, R., Rodríguez, N., Idárraga-Piedrahita, A., Vargas, W., Vergara-Varela, H., Castaño-Naranjo, A., Devia, W., Rojas, A., Cuadros, H. & Toro, J. L. (2014), "Las plantas de los bosques secos", in Pizano, C. & García, H. (Eds.), *El bosque seco tropical en Colombia*, Instituto de Investigaciones de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt, Bogotá D. F, Colombia, pp. 49-87.
- Pyke, G. H. (2016), "Floral Nectar: Pollinator Attraction or Manipulation?", *Trends Ecology Evolution*, Vol. 31 No. 5, pp. 339-341.
- Ranchel-Ch, J., Lowy-C, P., Aguilar-P, M. & Garzón-C, A. (1997), "Tipos de vegetación en Colombia, una aproximación al conocimiento de la terminología fitosociológica, fitoecológica y de uso común", in Ranchel-Ch, J., Lowy-C, P. & Aguilar-P, M. (Eds), *Colombia diversidad biótica II*, Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales IDEAM, Bogotá D. F, Colombia, pp. 89-382.

- Renner, S. S. (2006), "Rewardless flowers in the angiosperms and the role of insect cognition in their evolution", in Waser, N. M. & Ollerton, J. (Eds.), *Plant pollinator interactions: from specialization to generalization*, University of Chicago Press, and Chicago, pp. 123-134.
- Salguero-Far a, J. A. & Ackerman, J. D. (1999), "A nectar reward: is more better?", *Biotropica*, Vol. 31 No. 2, pp. 303-311.
- Scopece, G., Cozzolino, S., Jonhson, S. D. & Schiestl, F. P. (2010), "Pollination efficiency and the evolution of specialized deceptive pollination systems", *The American Naturalist*, Vol. 175 No. 1, pp. 98-105.
- Simpson, B. B. & Neff, J. L. (1981), "Floral rewards: alternatives to pollen and nectar", *Annals of the Missouri Botanical Garden*, Vol. 68 No. 2, pp. 301-322.
- Smithson, A. & Gigord, L. D. B. (2001), "Are there fitness advantages in being a rewardless orchid? Reward supplementation experiments with *Barlia robertiana*", *Proceedings: Biological Sciences*, Vol. 268 No. 1475, pp. 1435-1441.
- Smithson, A. (2002), "The Consequences of rewardlessness in orchids: reward-supplementation experiments with *Anacamptis morio* (Orchidaceae)", *American Journal of Botany*, Vol. 89 No. 10, pp. 1579-1587.
- Smithson, A. & Gigord, L. D. B. (2003), "The evolution of empty flowers revisited", *The American Naturalist*, Vol. 161 No. 4, pp 537-552.
- Smithson, A. (2006), "Pollinator limitation and inbreeding depression in orchid species with and without nectar rewards", *New Phytologist*, Vol. 169 No. 2, pp. 419-430.
- Stpiczynska, M. (2003). "Floral longevity and nectar secretion of *Platanthera chlorantha* (custer) rchb. (Orchidaceae)", *Annals of Botany*, Vol. 92 No. 2, pp.191-197.
- Tremblay, R. L., Ackerman, J. D., Zimmerman, J. K. & Calvo, R. N. (2005), "Variation in sexual reproduction in orchids and its evolutionary consequences: a spasmodic journey to diversification", *Biological Journal of the Linnean Society*, Vol. 84 No. 1, pp. 1-54.
- Tropicos, Missouri Botanical Garden (2017), "*Rodriguezia granadensis* rchb. F", available at: [www.tropicos.org/Name/23511121?tab=distribution](http://www.tropicos.org/Name/23511121?tab=distribution) (accessed 8 December 2017).
- Walsh, R. P & Michaels, H. J. (2017), "When it pays to cheat: examining how generalized food deception increases male and female fitness in a terrestrial orchid", *PLOS One*, Vol. 12 No. 1, pp. 1-8.

